



TITLE:

# 31P Magnetic resonance spectroscopyによるラット精巣機能の評価法の検討

AUTHOR(S):

鈴木, 裕志; 蟹本, 雄右; 岡田, 謙一郎; 石井, 靖

---

CITATION:

鈴木, 裕志 ...[et al]. 31P Magnetic resonance spectroscopyによるラット精巣機能の評価法の検討. 泌尿器科紀要 1995, 41(4): 269-277

ISSUE DATE:

1995-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/115484>

RIGHT:

## <sup>31</sup>P Magnetic resonance spectroscopy による ラット精巣機能の評価法の検討

福井医科大学泌尿器科学教室 (主任: 岡田謙一郎教授)

鈴木 裕志\*, 蟹本 雄右\*\*, 岡田 謙一郎

福井医科大学放射線医学教室 (主任: 石井 靖教授)

石 井 靖

### EXPERIMENTAL STUDIES ON EVALUATION OF RAT TESTICULAR FUNCTION BY <sup>31</sup>P MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY

Yuji Suzuki, Yusuke Kanimoto and Kenichiro Okada

*From the Department of Urology, Fukui Medical School*

Yasushi Ishii

*From the Department of Radiology, Fukui Medical School*

To evaluate the efficacy of <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy (<sup>31</sup>P MRS) as a diagnostic method for abnormal testicular function, we examined three conditions using rat testes, ischemia, irradiation, and hormone manipulation. 1) Ischemia: Immediately after clamping of the feeding vessels, ATP signals began to fall and disappeared within 60 minutes. With the release of blood supply after 3 hours of ischemia, ATP appeared within 2 hours. However, after more than 4 hours of ischemia, ATP did not recover within 2 hours and the testis became necrotic after 1 week. 2) Irradiation: <sup>31</sup>P MRS of the testis 2 weeks after irradiation with 10 Gy, 9 MeV showed a significant decrease ( $P < 0.05$ ) in the PME/ $\beta$ -ATP ratio from  $1.30 \pm 0.11$  (control level) to  $1.11 \pm 0.12$  and a decrease in PME/PDE ratio from  $1.43 \pm 0.17$  to  $1.13 \pm 0.20$ . However 3 weeks later, the PME/ $\beta$ -ATP ratio recovered to a control level. 3) Hormone manipulation: In the testes 5 weeks after weekly intramuscular injections of estradiol benzoate and testosterone enanthate, PDE/ $\beta$ -ATP ratio significantly increased ( $P < 0.01$ ) from  $0.83 \pm 0.09$  (control level) to  $1.03 \pm 0.19$ . <sup>31</sup>P MRS is a non-invasive method for evaluation of various testicular abnormalities, and ATP signals may be useful to evaluate an acute ischemic change for example testicular torsion and the changes of PME, PDE signals may be useful parameters in the assessment of the status of spermatogenesis.

(Acta Urol. Jpn. 41: 269-277, 1995)

**Key words:** <sup>31</sup>P MRS, Rat testis, Ischemia, Radiation, Hormone manipulation

### 結 言

<sup>31</sup>P Magnetic Resonance Spectroscopy (<sup>31</sup>P MRS) は生体内の高エネルギー物質である磷酸化合物を非侵襲的に測定できるため、横紋筋<sup>1,2)</sup>、心筋<sup>3,4)</sup>、肝臓<sup>5)</sup>、脳<sup>6)</sup>などの生体組織や腫瘍<sup>7)</sup>などの生物学的活性の評価に応用されてきている。これらからえられるス

ペクトルは形態の変化をひきおこす前にすでに変化がみられ、各組織におけるエネルギー代謝の変化をきわめて鋭敏に測定することが可能である。

今回、<sup>31</sup>P MRS の泌尿器科領域への応用として、体表に近く表面コイルでの測定が容易な精巣に注目し、ラット精巣の血流遮断、遮断解除モデルと放射線照射とホルモン投与による精巣障害モデルについてスペクトルの変化を測定した。さらに、組織学的変化との対比を行い、<sup>31</sup>P MRS の精巣機能評価への有用性を検討した。

\* 現: 倉敷中央病院

\*\* 現: 社会保険埼玉中央病院

## 対象および方法

### 1. 血流遮断, 遮断解除モデル

Wistar ラット (8週齢, 雄) を用い, pentobarbital 麻酔下に陰囊部切開を加え精巣を創外に露出させ, 精管系の血管を結紮することにより精索のみの血流支配とした. 血流遮断実験では, プラスチック鉗子を用いて精索をクランプし, 遮断直前, 20分後, 40分後, 60分後に  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した. 遮断解除実験では血流遮断後 1, 2, 3, 4, 5時間経過した後にそれぞれプラスチック鉗子をはずし経時的に  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した. なお, 血流遮断後60分までの測定と, 3時間および4時間血流遮断した精巣における遮断解除後の変化の測定は2匹のラットで2精巣について検討し, 再現性を確認した. 他はラット1匹, 1精巣で測定した.

### 2. 精巣機能障害モデル

1) 放射線照射実験: Sprague-Dawley ラット (8~10週齢, 雄, 8匹) の精巣を陰囊内に十分下降させた状態で陰囊部に 10 Gy, 9 MeV の電子線を1回照射し, 照射後2週間目 (4匹, 7精巣) および3週間目 (4匹, 8精巣) に  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した. また, 照射群とは別に放射線照射をしていない2匹, 4精巣についても  $^{31}\text{P}$  MRS を測定し, 照射前のコントロール群とした. 測定は血流遮断, 解除実験と同様に陰囊切開を加え精巣より直接スペクトルをえることとした.

2) ホルモン投与実験: Sprague-Dawley ラット (8~10週齢, 雄, 10匹) を用い, この内5匹をホルモン投与群とし, 残り5匹をコントロール群とした. ホルモン投与群は Bretan らの方法<sup>8)</sup>に準じ 17- $\beta$ -estradiol 3-benzoate 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , testosterone enanthate 20 mg/kg を週1回, 計5回筋肉内注射し, コントロール群はホルモン投与群と同じプロトコールで生理食塩水のみを投与した. 両群とも最終投与より1週間後にそれぞれ5匹, 10精巣について  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した.

### 3. $^{31}\text{P}$ MRS の測定

精巣のスペクトル測定には前述したように pentobarbital 麻酔下に陰囊正中切開を加え精巣を創外に露出し, この際, 陰囊皮膚や筋組織からのスペクトルを極力避けるために精巣下に生理食塩水を含んだガーゼを敷き, 精索を障害しない程度に精巣全体を挙上させた. また, 精巣が乾燥しないように適時生理食塩水を滴下させ, 測定が長時間におよぶ場合は適時麻酔を追加した.

$^{31}\text{P}$  MRS の測定には PHOSPHO-ENERGETICS BEN 250/80 (2T, 大塚電子製) を用い, 直径 2 cm の表面コイルを精巣表面に圧迫しない程度に密着させた. 測定条件は共鳴周波数 35.3 MHz, 観測帯域 5,000 Hz, パルス幅 23  $\mu\text{s}$ , 繰り返し時間 2 秒で 600 回積算した.

スペクトルの解析は各群におけるスペクトルのピーク高の相対比を平均値±標準偏差値で示し, Generalized-Wilcoxon 法で対照群, および各群間の比較を行った.

### 4. 組織学的検討

測定した精巣を摘出し, ブラン固定した後 HE 染色を行い各群の組織学的変化を比較検討した. また, 血流遮断実験においては遮断解除後拍動する心臓内に墨汁を注入し, pentobarbital 投与により屠殺後, 精巣を摘出して血流の有無を検討した.

## 結 果

### I. ラット正常精巣の $^{31}\text{P}$ MRS (Fig. 1- before)

正常精巣のスペクトルでは低磁場より phosphomonoester (PME), 無機リン (Pi), phosphodiester (PDE), および ATP などのピークが認められ, 筋組織などで認められるクレアチン燐酸のスペクトルは認められず, 周囲組織からのスペクトルの混入はきわめて少ないと考えられた. 精巣組織は高いピークの PME が特徴的であり, 高エネルギー物質である ATP のピークも高く, 活発なエネルギー代謝を示した.

### II. 血流遮断, 解除による変化

#### 1. 血流遮断 (Fig. 1)

血流遮断後 0~20 分間のスペクトルでは ATP のピークは減少傾向を示し, 相対的に無機リンのピークの増高を認めた. この傾向は 20~40 分間ではさらに強まり, 40~60 分間後には ATP のピークは消失し, 無機リンと PME のピークのみとなった.

#### 2. 血流遮断解除後のスペクトルの変化

3 時間血流遮断した精巣では, 高いピークの無機リンと PME を認めるのみであったが, 精索をクランプした鉗子をはずし血流を解除した 2 時間後のスペクトルでは,  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  の各 ATP ピークは再び出現し, 無機リンのスペクトルは減少傾向を示した. さらに, 9 時間後では ATP は血流遮断前とほぼ同じ程度に回復し, 無機リンも低いピークに落ちついた (Fig. 2). また, 1 時間, 2 時間血流遮断した精巣も遮断解除後はすみやかに ATP の回復を認めた.

一方, 4 時間血流遮断した精巣では, クランプ解除 2 時間後も ATP のスペクトルはえられず, 無機リン

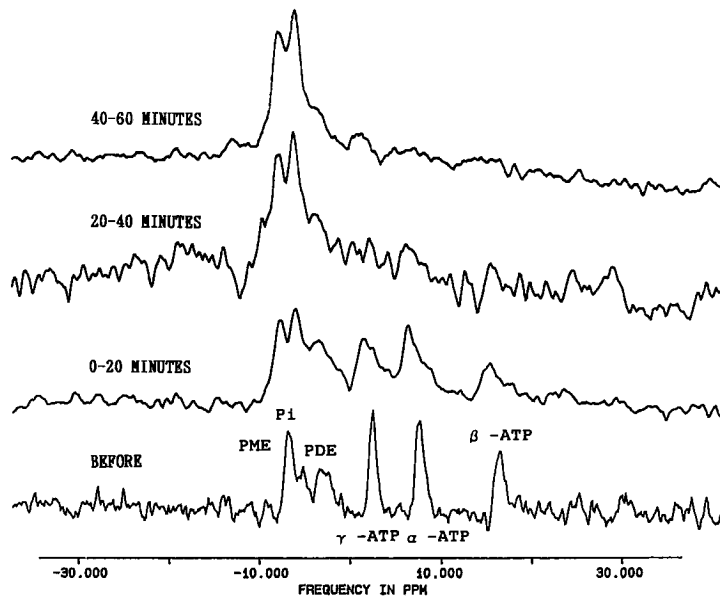


Fig. 1. Spectra before and after clamping the feeding vessels.

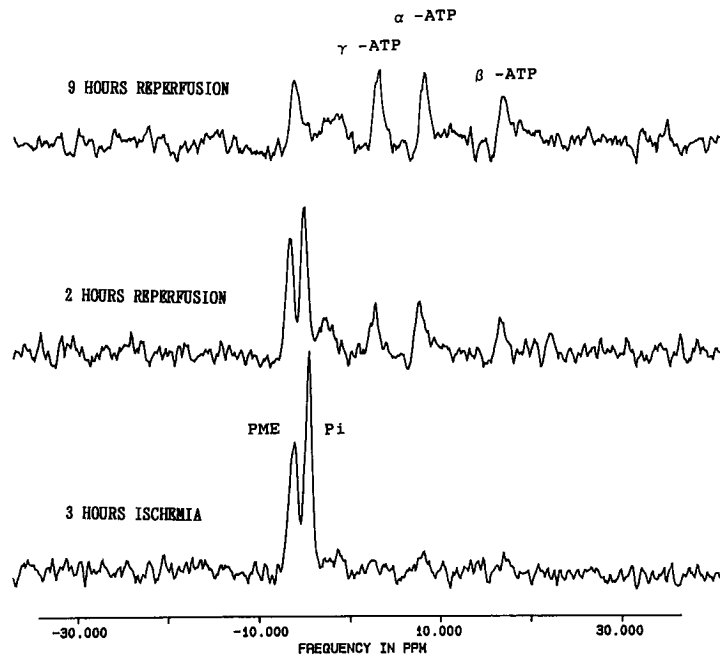


Fig. 2. Spectra for 3-hour ischemia and after reperfusion for 2 and 9 hours.

は PME と比較し増高を認めた (Fig. 3). さらに、この精巣を陰嚢内に還納し1週間後に摘出したところ、精巣は著明に縮小し壊死を生じていた。

### 3. 血流4時間遮断後の組織変化 (Fig. 4)

血流を4時間遮断後、クランプを解除した状態でラットの心臓内に墨汁を1ml注入し、精巣を摘出した。HE染色では精細胞には形態的な変化は認められなかった。しかし、血流に関しては精細管間の一部の血

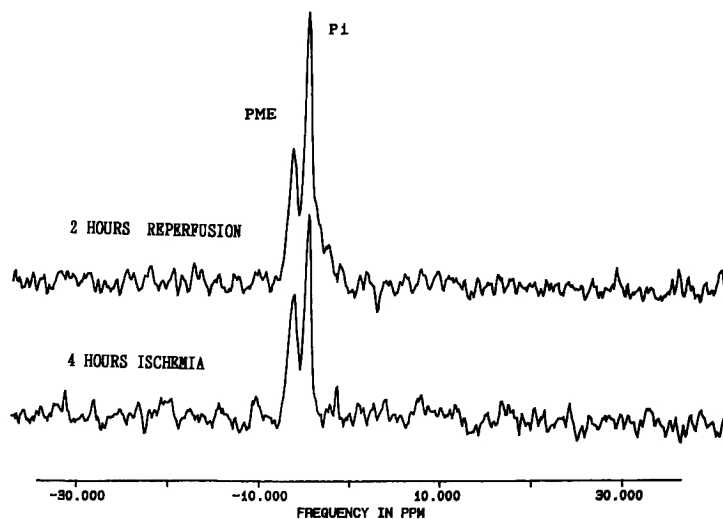


Fig. 3. Spectra for 4-hour ischemia and after reperfusion for 2 hours. The testis became necrotic after 1 week.

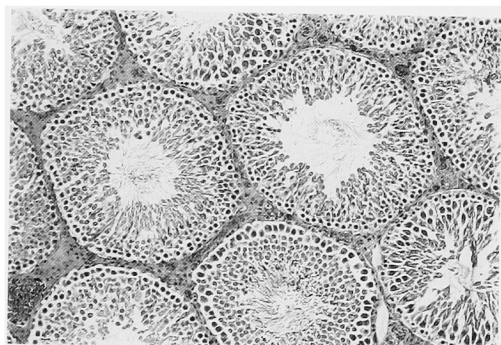


Fig. 4. Microscopic figure of the testis after 4-hour ischemia, showing thrombus formation in the majority of small vessels. The particles of India ink were poorly scattered (HE stain  $\times 200$ ).

管内に墨汁の墨粒子を認め、血流は多少保たれているものの多くの血管内には血栓形成を認めた。

### Ⅲ. 精巣機能障害モデルでの変化

#### 1. 放射線照射群のスペクトル変化

照射後2週間のスペクトルは PME ピークの減少傾向と PDE ピークの増加傾向を認めた (Fig. 5). PME/ $\beta$ -ATP 比をみると (Fig. 6), 照射前が  $1.30 \pm 0.11$  に対し, 2 週間後は  $1.11 \pm 0.12$  と有意な低下を示した ( $P < 0.05$ ). しかし, 3 週間後では  $1.30 \pm 0.16$  と 2 週間後に比べ有意に再上昇し ( $P < 0.05$ ), ほぼ照射前値に回復した。一方, PDE/ $\beta$ -ATP 比 (Fig. 6) は 2 週間後, 3 週間後と経時的に上昇傾向を示したが, 照射前との有意差はえられなかった。また, 両

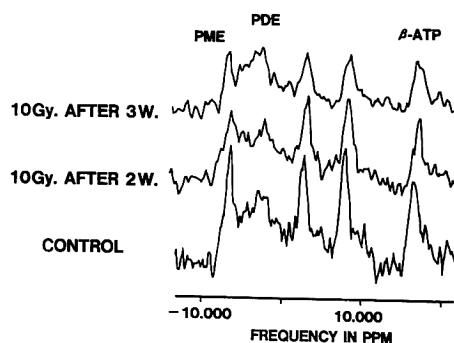


Fig. 5. Spectra for the testis before and 2 weeks, 3 weeks after 10 Gy. irradiation.

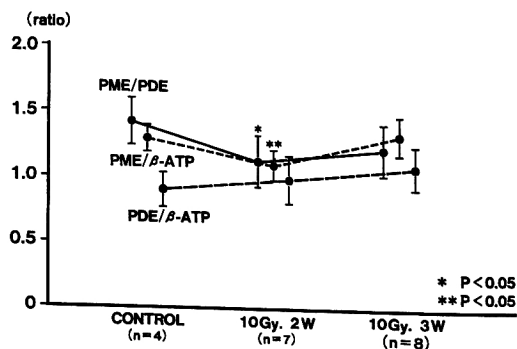
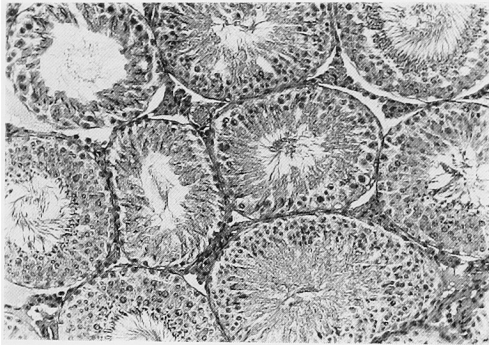


Fig. 6. Spectra ratios before and 2 weeks, 3 weeks after 10 Gy. irradiation. PME/ $\beta$ -ATP and PME/PDE ratios were significantly decreased after 2 weeks ( $P < 0.05$  and, respectively), but recovered to the normal level after 3 weeks. Each point and bar shows mean  $\pm$  SD.

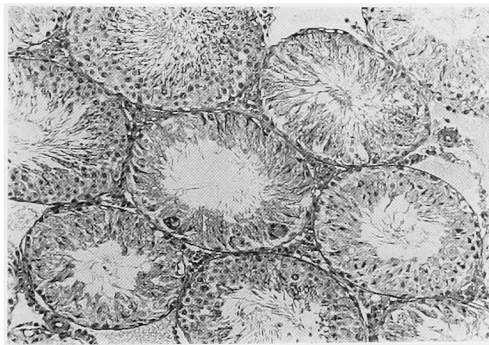
者の比である PME/PDE (Fig. 6) は照射前  $1.43 \pm 0.17$  が 2 週間後は  $1.13 \pm 0.20$  と有意に低下した ( $P < 0.05$ ). しかし, 3 週間後では  $1.23 \pm 0.20$  と再上昇したが, 照射前および 2 週間後のいずれに対しても有意差は認めなかった.

## 2. 放射線照射による組織変化

放射線照射 2 週間後の組織所見 (Fig. 7-a) では一部の精細管に spermatogonia の脱落や spermatocyte の減少を認めたが, 比較的に精細管構造の保たれたものも多くみられ, spermatozoa を認める精細管も存在した. 3 週間後の変化 (Fig. 7-b) では spermatogonia, spermatocyte, spermatid の減少は顕著となり, 巨細胞様の細胞を認める精細管や壊死をおこした精細管が増加した. しかし, 構造の比較的保たれた精細管も存在していた.



a



b

Fig. 7. Microscopic figure of the testis 2 weeks and 3 weeks after 10 Gy. irradiation (HE stain  $\times 200$ ). a) 2 weeks after irradiation, showing degeneration of spermatogonia and decrease in number of spermatogonia and spermatocyte. b) 3 weeks after irradiation, showing more advanced loss of germ cells, except for spermatozoa. Regeneration of spermatogonia, however, was seen in some tubules.

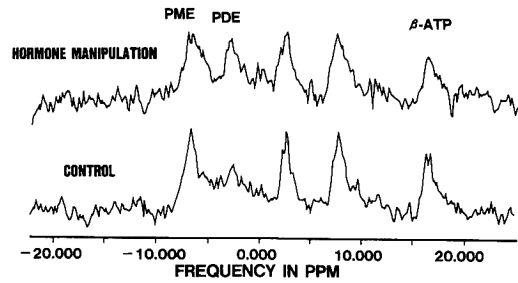


Fig. 8. Spectra for the control testis and hormone-manipulated testis.

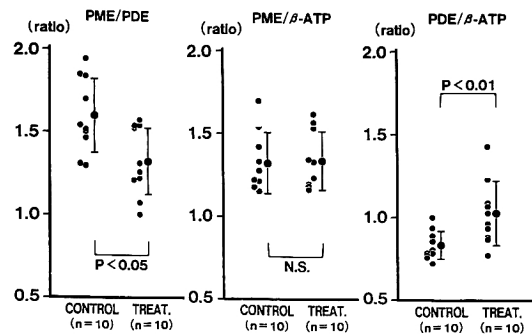


Fig. 9. Spectra ratios for the control and the hormone-manipulated testis. PDE/ $\beta$ -ATP ratio of the hormone-manipulated testis was significantly increased compared with the control. The values are indicated as means  $\pm$  SD.

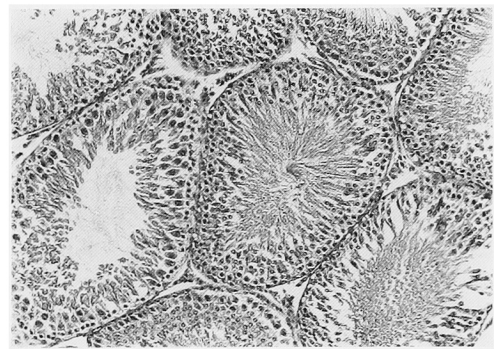


Fig. 10. Microscopic figure of hormone-manipulated testis (HE stain  $\times 200$ ), showing mild decrease in number of spermatocyte and spermatid with relative preservation of spermatogonia.

## 3. ホルモン投与群のスペクトル変化

ホルモン投与群ではコントロール群に比べ PDE の増加が認められた (Fig. 8). 各スペクトルの比を検討 (Fig. 9) してみると, PDE/ $\beta$ -ATP 比はコントロール群  $0.83 \pm 0.09$  に対してホルモン投与群  $1.03 \pm 0.19$  と有意に増加 ( $P < 0.01$ ) を示していた. しかし

ながら、PME/ $\beta$ -ATP 比はコントロール群  $1.32 \pm 0.18$  に対してホルモン投与群では  $1.34 \pm 0.18$  と有意な変化を認めなかった。PME/PDE 比はコントロール群  $1.59 \pm 0.23$  に対しホルモン投与群  $1.32 \pm 0.20$  と有意な低下 ( $p < 0.05$ ) を示した。

#### 4. ホルモン投与による組織変化 (Fig. 10)

ホルモン投与群の組織所見では spermatogonia は保たれているが、spermatocyte, spermatid は減少し、精細管内の細胞数の減少を認めた。放射線照射群とは異なり各精細管ともほぼ均一な変化を示していた。

## 考 察

精巣疾患における病態の検査には、触診、超音波断層法、血流動態に関する画像診断、さらに不妊症に対しては精液検査、各種ホルモン検査、精巣生検が行われている。われわれはこれらの検査以外に精巣の病態を評価する方法として  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy ( $^{31}\text{P}$  MRS) に注目し、精巣回転症を念頭に入れた精巣の血流障害モデルと、精巣機能の急性障害モデルとして放射線照射、また、慢性障害モデルとして性ホルモン投与により造精障害を誘起した精巣でその有用性を検討した。 $^{31}\text{P}$  MRS の利点としては、レントゲン検査と異なり放射線被曝もなく、体表から高エネルギー物質であるリン酸化合物の代謝を評価できることである。国方ら<sup>9)</sup>は腎移植における保存腎の viability 評価法として  $^{31}\text{P}$  MRS に注目し、阻血腎では早期に ATP の減少をきたすことを報告した。その他、脳<sup>6)</sup>、肝臓<sup>5)</sup>、心臓<sup>3,4)</sup>などの臓器における血流の変化に伴う viability を評価した報告もみられる。いずれも血流の低下により高エネルギー物質である ATP の減少が特徴である。

われわれの精巣血流遮断によるスペクトルの変化も短時間で ATP のシグナルは減少し、これに伴い Pi の増加が認められた。一方、遮断解除により遮断3時間までの精巣では ATP の回復を認め、4時間以上では Pi の増加を認めるのみで ATP の回復は認められなかった。4時間遮断した後、心臓内に墨汁を注入した精巣の顕微鏡組織検査では、精細管間の血管に墨の粒子をわずかに認めるものの、血栓形成も認められ、精細胞の形態的变化を伴う前に血流障害により精巣全体としては不可逆的な障害をきたしているものと考えられた。

Smith は<sup>10)</sup>犬を用いて精巣阻血による経時的な組織変化を観察し、4時間以上の阻血により造精能の低下や精巣萎縮をきたしたことを報告しており、また、臨床に経験される精巣回転症においても発症時から4

～6時間以内に整復した場合は予後良好<sup>11)</sup>といわれている。しかし、Turner ら<sup>12)</sup>はラットを組いた精巣回転症モデルで血流遮断実験を行い、血流遮断解除後の血流量、精巣重量、精子数の変化を30日まで経時的に検討したところ、1時間の血流遮断では早期に血流は回復するものの、30日後には著明な精巣重量の低下や精子形成の減少を認めている。すなわち、血流の早期回復が必ずしもその後の造精機能温存を保証するものではなく、精細胞の不可逆的变化は比較的早期に生じていることを示している。今回の  $^{31}\text{P}$  MRS による血流遮断、解除の実験は臓器温存における最低条件である血流回復を検討したものであり、血流回復後の造精機能については検討しておらず、これに関しては、ATP 以外の PME, PDE などのパラメーターの変化を長期に検討する必要があると思われる。しかしながら、 $^{31}\text{P}$  MRS は ATP の減少や Pi の増加をみることにより血流の変化を鋭敏に観察することができ、精巣回転症の診断や整復手術後の血流の回復および変化を観察するためには侵襲の少ない良い方法と考える。今回は測定に600回積算のため20分を要したが、120回の積算でも ATP の減少は明らかに判定でき、測定時間の短縮は可能である。

$^{31}\text{P}$  MRS は単に ATP を中心としたエネルギー代謝を評価するだけではなく、phosphomonoester (PME), phosphodiester (PDE) などのリン脂質代謝に関する評価も可能である。特に精巣には PME が豊富であり、Navon ら<sup>13)</sup>は摘出したラット精巣の perchloric acid 抽出物を  $^{31}\text{P}$  MRS にて測定し、精巣における PME の多くは phosphoethanolamine (PE) と phosphocholine (PC) であることを報告している。これらは細胞膜のリン脂質合成における phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine の前駆物質であり<sup>14)</sup>、choline kinase, ethanolamine kinase の活性により増殖の活発な組織や細胞で増加する<sup>15,16)</sup>といわれている。すなわち、PME の増加はリン脂質合成が活発におこなわれていることを示し、PME の変化は組織および細胞の viability を評価する指標となりえる。このことを利用して造精機能障害の評価をする試みがなされており、Bretan ら<sup>8)</sup>は犬を用いて gonadotropin 抑制による造精機能障害精巣の  $^{31}\text{P}$  MRS を測定し、PME の減少と PDE の増加を認め、PME/PDE 比の減少が造精機能障害の指標となりえることを報告した。われわれはまず、急性の精巣機能障害モデルとして、放射線照射群で  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した。スペクトルと組織所見を比較検討してみると、10 Gy、1回の放射線照射後2週間では

PME/ $\beta$ -ATP 比は有意に低下し, 組織所見では spermatogonia の脱落, spermatocyte の減少を認めた. このことは放射線照射による精細胞の障害によりリン脂質合成が抑制され, PME の減少をきたしたものと考えられる. 一方, 3週間後の組織所見では精細胞の障害はさらに進行していたにもかかわらず, PME は再び増加しほぼ回復していた. Casarett ら<sup>17)</sup>によると, ラット精巣に対し 325 rad の放射線単回照射した後, 11日目には spermatogonia の著明な減少と spermatocyte の減少傾向を認め, 25日目には全体的な造精機能障害は進行するものの, 一部には spermatogonia の再生像を認めるとしている. さらに, 750 rad の照射では造精機能障害の程度は増加し, spermatogonia の再生像出現が遷延すると報告している. われわれは早期に造精機能障害を評価するために, さらに high dose である 10 Gy. を照射したが, 組織所見を詳細に検討すると一部の精細管では比較的細胞構築が保たれており, spermatogonia の再生像と考えられる精細管も認められた. 精細胞の放射線感受性については, 分裂期にある type A spermatogonia は感受性が高いが, 休止期の type A spermatogonia や type B spermatogonia, spermatocyte は比較的感受性が低く, spermatid や spermatozoa は放射線抵抗性であるといわれている<sup>17)</sup>. また, 各精細管では精細胞の配列は様々なステージを示し分裂能や分化の程度が異なることから, 放射線感受性の違いにより比較的障害が軽度で済んだ精細管があったものと思われる. そのため, 3週間後の PME の再増加傾向は障害が軽度であった精細管の造精機能が回復傾向を示すものと考えられる.

一方, 放射線照射のような急性細胞障害と異なる慢性的な造精機能障害におけるスペクトルの変化を観察する目的で, estrogen, testosterone 大量投与による gonadotropin 抑制モデルについても  $^{31}\text{P}$  MRS を測定した. この結果, 精巣重量はコントロール群に比べ有意に減少 ( $P<0.0001$ ) していた. しかし, 先ほど放射線照射群で認められたような PME/ $\beta$ -ATP 比の減少は認められなかった. PME の減少が認められなかったことについて, スペクトルと組織所見との比較検討をしてみると放射線照射群に比べ精細胞の障害が軽度であり, spermatogonia などの残存細胞が多いことを反映しているものと思われる. しかし, PDE/ $\beta$ -ATP 比は有意に上昇を認めた. 放射線照射群においても有意差は認めないものの PDE/ $\beta$ -ATP の増加傾向は認め, PDE の増加が精巣機能障害を示す第二の指標と考えられる. Grond ら<sup>18)</sup>は健康男性13人

と高度の造精機能障害患者11人についてスペクトルを測定し, 造精機能障害者では有意な PME/ $\beta$ -ATP の減少と PDE/ $\beta$ -ATP の増加を認めたことを報告している. 一方, Chew ら<sup>19)</sup>は造精機能障害者では有意に PME/ $\beta$ -ATP の減少を認めるものの PDE/ $\beta$ -ATP には有意差を認めていない.

PDE は glycerophosphocholine (GPC), glycerophosphoethanolamine (GPE) などを含み<sup>13,20)</sup>, これらは phospholipase A1, A2, B および lysophospholipase の作用による phosphatidylcholine および phosphatidylethanolamine の分解産物である. 精巣における PDE の多くは GPC であり<sup>20)</sup>, GPC は active cell や mature cell では欠損し, resting cell に存在することも報告されている<sup>21)</sup>. また, Grond らはラット精巣の加齢による変化を測定し, 幼弱ラットでは PDE/ATP 比は低く10週齢以降になると増加し, 12週齢以降ではほぼプラトーであると報告している<sup>22)</sup>. このことは分裂増殖の盛んな細胞では PDE は少なく, 休止期にある細胞で増加する上記の結果を裏付けるものと思われる. このため, 精巣では Sertoli 細胞由来の可能性も示唆されている<sup>22)</sup>. しかし, われわれの精巣機能障害モデルでは組織所見では Sertoli 細胞のみではなく精細胞も残存しており, PDE の増加は必ずしも Sertoli 細胞由来のみとは考えにくい. 一方, Daly らはヒト乳癌細胞を用いて choline から PC を合成する choline kinase の inhibitor である hemicholinium-3 の添加により PC の減少と GPC の増加を認めており<sup>15)</sup>, また, choline 自体が GPC を分解する GPC phosphodiesterase 活性を抑制することも報告されている<sup>23)</sup>ことから, 細胞障害によりリン脂質合成の初期の段階で choline kinase 活性が低下し, 蓄積した choline により GPC phosphodiesterase 活性が抑制され GPC が増加することが考えられる. さらに GPC の働きについては, lysophosphatidylcholine から GPC に分解する lysophospholipase に対し内因性の inhibitor として作用し, 精巣の phospholipid composition を保つ働きがある<sup>24)</sup>との報告もある. これらのことから GPC は細胞が障害を受けた際に単にリン脂質の分解産物として増加するのみではなく, 細胞が phospholipid composition を保つために合目的に増加している可能性があり, 興味深いものと思われる.

しかしながら一方では,  $^{31}\text{P}$  MRS で認められる精巣の GPC が血流遮断によりすみやかに消失してしまうことから, 細胞外由来である可能性も示唆されている<sup>22)</sup>. GPC は精巣上部頭部で多量に産生され<sup>25)</sup>,



精巣よりも精巣上体や精莖中に高濃度に認められ<sup>13)</sup>, 精子の運動性を高める働きを持っている<sup>20)</sup>. このように他の組織と異なり GPC が活発に産生されているため, 精巣機能障害における GPC の変化は単にリン脂質合成障害を示しているのみではない可能性もあり, 今後の検討が待たれるところである.

今回の血流遮断, 解除実験からは <sup>31</sup>P MRS は A-TP の変化を鋭敏にとらえることができ, 精巣回転症などの血流障害の診断や整備後の予後の評価に有用と考えられた. また, 放射線照射, ホルモン投与などの実験結果からは PME, PDE の変化が造精機能障害を示していることが示唆され, PME/PDE 比, PME/ $\beta$ -ATP 比, PDE/ $\beta$ -ATP 比は男子不妊症などの評価に応用が可能であると考えられた. 今後もこれら PME, PDE の変化がさらに詳細な細胞障害の機序や程度の違いを反映できるか, また, 測定においても S/N 比の向上, 測定時間の短縮や定量性の確立などの課題が残されているが, 侵襲の少ない検査法として精巣機能障害の評価に有用であると考えられる.

## 結 語

- 1) 精巣の血流遮断と解除, 放射線照射, およびホルモン投与の3つの条件下で <sup>31</sup>P MRS を測定し, その有用性を検討した.
- 2) 血流遮断後, ATP はすみやかに減少し60分以内に完全に消失した.
- 3) 3時間までの血流遮断では遮断解除後に ATP の回復が認められたが, 4時間以上の遮断では解除後も ATP の回復は認められなかった.
- 4) 放射線照射2週間後では PME/ $\beta$ -ATP 比および PME/PDE 比の減少が認められ, PME の減少は造精機能障害の指標として有用と考えられた.
- 5) ホルモン投与による gonadotropin 抑制モデルでは, PME/PDE 比の減少と PDE/ $\beta$ -ATP の増加を認め, PDE の増加も造精機能障害の第二の指標となると考えられた.
- 6) 以上より <sup>31</sup>P MRS は精巣の血流障害や造精機能障害の評価に有用であり, 侵襲性の少ない検査法として臨床応用が可能と考えられた.

なお本研究の一部は文部省科学研究費(課題番号03771034)の助成を受け, 本論文の要旨は第38回日本泌尿器科学会中部総会, 第34回不妊学会総会, 第15回日本核磁気共鳴医学会大会, 第80回日本泌尿器科学会総会において発表した.

## 文 献

- 1) Sapega AA, Sokolow DP, Graham TJ, et al.: Phosphorus nuclear magnetic resonance. *Med Sci Sports Exerc* 19: 410-420, 1987
- 2) 片山憲史, 樋口敏宏, 田中忠蔵, ほか: <sup>31</sup>P-MR-S によるヒト骨格筋エネルギー代謝の観察—臨床用 MR 装置内での定量的運動負荷の試み—. *日磁気共鳴医学会誌* 9: 161-168, 1989
- 3) Schaefer S, Camacho SA, Gober J, et al.: Response of myocardial metabolites to graded regional ischemia: <sup>31</sup>P NMR spectroscopy of porcine myocardium in vivo. *Cir Res* 64: 968-976, 1989
- 4) 関谷政夫: 心筋 <sup>31</sup>P-MRS の臨床応用に関する基礎的検討. *日磁医誌* 13: 1-10, 1993
- 5) 中郡聡夫: In situ <sup>31</sup>P-MRS による急性虚血障害肝のエネルギー代謝と組織 pH のモニタリング. *日磁医誌* 11: 10-19, 1991
- 6) Welch KMA: <sup>31</sup>P in vivo spectroscopy of adult human brain. In: *NMR: Principles and Applications to Biomedical Research*. Edited by Pettegrew JW. 1st ed., pp. 429-467, Springer-Verlag, New York, 1990
- 7) 蟹本雄右, 鈴木裕志, 岡田謙一郎: <sup>31</sup>P-Magnetic Resonance Spectroscopy による尿路性器癌の放射線療法および化学療法の効果に関する実験的研究. *泌尿紀要* 40: 295-301, 1994
- 8) Bretan PN, Vigneron DB, Hricak H, et al.: Assessment of testicular metabolic integrity with P-31 MR spectroscopy. *Radiology* 162: 867-871, 1987
- 9) 国方聖司: <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance (NMR) を用いた腎保存の研究. IV. Topical magnetic resonance (TNR) を用いた阻血腎の in vivo での測定. *日泌尿会誌* 78: 397-402, 1987
- 10) Smith GI: Cellular changes from graded testicular ischemia. *J Urol* 73: 355-362, 1955
- 11) Krarup T: The testes after torsion. *Br J Urol* 50: 43-46, 1978
- 12) Turner TT and Brown KJ: Spermatic cord torsion: Loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 49: 401-407, 1993
- 13) Navon G, Gogol E and Weissenberg R: Phosphorus-31 and proton NMR analysis of reproductive organs of male rats. *Arch Androl* 15: 153-157, 1985
- 14) Kennedy EP and Weiss SB: The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J Biol Chem* 222: 193-214, 1956
- 15) Daly PF, Lyon RC, Faustino PJ, et al.: Phospholipid metabolism in cancer cells monitored by <sup>31</sup>P NMR spectroscopy. *J Biol Chem* 262: 14875-14878, 1987
- 16) Pettegrew JW, Kopp SJ, Minshew NJ, et al.: <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance studies of phosphoglyceride metabolism in developing and degenerating brain: Primary observa-

1) Sapega AA, Sokolow DP, Graham TJ, et al.: Phosphorus nuclear magnetic resonance.

- tions. *J Neuropathol Exp Neurol* **46**: 419-430, 1987
- 17) Casarett GW: Chapter 5. The gonads. In: *Radiation Histopathology*. Edited by Casarett GW. 1st ed., pp 75-87, CRC Press, Florida, 1980
  - 18) Grond van der J, Velde ER, Laven JSE, et al.:  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy for diagnosing abnormal testicular function. *Fertil Steril* **56**: 1136-1142, 1991
  - 19) Chew WM, Hricak H, McClure RD, et al.: In vivo human testicular function assessed with  $^{31}\text{P}$  MR spectroscopy. *Radiology* **177**: 743-747, 1990
  - 20) Grond van der J, Seijkens D and Mali WPTHM: In vitro  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy of the reproductive organs of the male rat: An improved preparation method. *Magn Reson Med* **15**: 462-468, 1990
  - 21) Burt CT and Ribolow HJ. A hypothesis: Noncyclic phosphodiesterases may play a role in membrane control. *Biochem Med* **31**: 21-30, 1984
  - 22) Grond van der J, Laven JSE, Echteid CJA, et al.: The progression of spermatogenesis in the developing rat testis follows by  $^{31}\text{P}$  MR spectroscopy. *Magn Reson Med* **23**: 264-274, 1992
  - 23) Baldwin JJ and Cornatzer WE: Rat kidney glycerolphosphorylcholine diesterase. *Biochem Biophys Acta* **164**: 195-204, 1968
  - 24) Burt CT: Phosphodiesterases and NMR: a tale of rabbits and chickens. *Trends Biochem Sci* **10**: 404-406, 1985
  - 25) Hinton BT and Setchell BP: Concentrations of glycerophosphocholine, phosphocholine and free inorganic phosphate in the luminal fluid of the rat testis and epididymis. *J Reprod Fertil* **58**: 401-406, 1980
  - 26) Arrata WSM, Burt CT and Corder S: The role of phosphate esters in male fertility. *Fertil Steril* **30**: 329-333, 1978

(Received on August 30, 1994)  
(Accepted on December 30, 1994)